

УДК 582.632.1:630.181:57.04

## ВЛИЯНИЕ ФАКТОРА ДЕФОЛИАЦИИ И КЛИМАТИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА ДИНАМИКУ СОДЕРЖАНИЯ ФЕНОЛГЛИКОЗИДОВ В ЛИСТЬЯХ БЕРЕЗЫ ПОВИСЛОЙ (*BETULA PENDULA* ROTH.)

Колтунов Е.В., Яковлева М.И.

ФГБУН Ботанический сад Уральского отделения Российской Академии наук, Екатеринбург,  
e-mail: evg\_koltunov@mail.ru

Уровень энтоморезистентности древостоев в лесных фитоценозах является важнейшим компонентом их устойчивости к насекомым-филлофагам. Поэтому изучение механизмов и факторов энтоморезистентности остается актуальным. Энтоморезистентность дифференцируется на конститутивную и индуцированную. Она включает как физические компоненты (шипики, трихомы, жесткость листа), так и биохимические (содержание в клетках вторичных метаболитов, обладающих дегеррентными свойствами). У лиственных древесных растений наибольшее значение в энтоморезистентности имеют фенольные соединения. Дефолиация инициирует быстрое возрастание индуцированной энтоморезистентности (быстрой и замедленной). Важную роль в защите листьев от насекомых-филлофагов выполняют фенолгликозиды. Поэтому целью исследований было изучение влияния фактора дефолиации на ежегодную динамику содержания в листьях березы повислой фенолгликозидов (арбутин, салицин, салидрозид) и влияние на них климатических факторов. Проведен также сравнительный анализ параметров конститутивной энтоморезистентности в ранее дефолиированных насаждениях и контрольных (по группе фенолгликозидов). Для этих целей использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии в градиенте плотности. Как показали результаты, через 3 года после дефолиации древостоев березы повислой содержание фенолгликозида арбутина было наиболее высоким за весь период наблюдений. Это обусловлено функционированием механизма замедленной энтоморезистентности. В остальные годы содержание арбутина в контрольных древостоях всегда заметно превышало их содержание в дефолиированных насаждениях. Сходные результаты получены и по другим фенолгликозидам, за исключением салицина, продолжительность реакции замедленной резистентности которого была на 1 год меньше. Следовательно, в межвспышечный период уровень конститутивной резистентности высокорезистентных древостоев заметно выше, чем в ранее дефолилируемых. В год засухи содержание фенолгликозидов в контрольных насаждениях и ранее дефолиированных снижается, в годы с повышенным ГТК – возрастает. Но абсолютное содержание фенолгликозидов в дефолиированных насаждениях в основном достоверно ниже, чем в контрольных, а уровень ингибирования, вызванный абиотическим стрессом (засухой) – выше.

**Ключевые слова:** энтоморезистентность, дефолиация, фенолгликозиды, береза повислая

## THE INFLUENCE OF THE DEFOLIATION FACTOR AND CLIMATIC CONDITIONS ON THE DYNAMIC OF PHENOLIC GLYCOSIDES CONTENT IN THE LEAVES OF SILVER BIRCH (*BETULA PENDULA* ROTH.)

Koltunov E.V., Yakovleva M.I.

Botanical Garden Ural Department of Russian Academy of sciences, Ekaterinburg,  
e-mail: evg\_koltunov@mail.ru

The level of entomoresistance of forest stands is most important component of their sustainability to insects-phytophages. Therefore, study of entomoresistance mechanisms is remains relevance. Entomoresistance is differentiated at constitutive and induced. It includes physical components (spines, trichomes, leaf stiffness), and biochemical (content of secondary metabolites that have deterrent properties). Phenolic compounds have greatest importance in entomoresistance of foliar plants. Therefore, aim of studies was investigations of defoliation factor influence on annual dynamics of phenolic glycosides content (arbutin, salicin, salidroside) in birch leaves and influence of climatic factors on them. Comparative analysis of constitutive entomoresistance parameters in previously defoliated plantations and control (based on phenolic glycosides) was also carried out. High-performance liquid chromatography in density gradient was used for these purposes. As results showed, 3 years after defoliation of birch stands, the content of arbutin was highest for entire observation period. This is due to functioning of delayed entomoresistance mechanism. In remaining years, content of arbutin in control stands always markedly exceeded their content in defoliated plantations. Similar results were obtained for other phenolic glycosides, with the exception of salicin, duration of delayed resistance reaction was 1 year less. Consequently, during population depression level of highly resistant stands constitutive resistance is markedly higher than in previously defoliated. In year of drought, phenolic glycosides content in control plantations, and previously defoliated, declines, in years with elevated HTC increases. But absolute content of phenolic glycosides in defoliated plantations is, in the main, significantly lower than in control plantations, and level of inhibition caused by abiotic stress (drought) is higher.

**Keywords:** entomoresistance, defoliation, phenolic glycosides, silver birch

Параметры энтоморезистентности древесных растений являются важнейшим компонентом их устойчивости к насекомым-филлофагам в условиях постоянного возрастания уровня и масштабов антропо-

генного воздействия. Поэтому изучение механизмов и факторов энтоморезистентности служит одним из важнейших направлений исследований во взаимоотношениях в системе: «дерево – насекомые» [1–3].

Параметры энтоморезистентности детерминируются сложной многофакторной системой [4–6]. Она дифференцируется на физическую и химическую защиту. К первой относится значительная жесткость листовой пластинки, наличие трихом, шипиков и эпикутикулярных восков на поверхности листьев растения [7]. Ко второй – содержание в листьях первичных и вторичных метаболитов [4, 5, 8]. Протективными свойствами против насекомых-филлофагов обладают аллелохимики из всех классов вторичных метаболитов: терпеноиды, фенолы, алкалоиды. У листовых древесных растений наибольшее значение в энтоморезистентности имеют фенольные соединения [4, 5]. Многие из них обладают антифидантными свойствами, или токсичностью. Фактор дефолиации инициирует быстрое возрастание индуцированной энтоморезистентности (быстрой и замедленной). Этот механизм препятствует сильной повторной дефолиации древостоев. Известно, что береза повислая имеет низкий уровень конститутивной энтоморезистентности, но высокий уровень энтомотолерантности [6]. На содержание фенольных соединений большое влияние оказывает комплекс абиотических и биотических факторов. Так, воздействие фактора абиотического стресса (засухи) снижает содержание фенольных соединений в листьях березы, ивы [9, 10]. Имеются и другие данные, которые показали, что воздействие засухи сопровождается возрастанием содержания фенолгликозидов у тополя черного (*Populus nigra*) [11]. Ранее показано, что фенолгликозиды выполняют важную роль в защите листьев от насекомых-филлофагов [12]. Они являются пищевыми детеррентами [13].

Цель исследования: учитывая важную роль фенолгликозидов в энтоморезистентности древесных растений целью исследований было изучение влияния фактора дефолиации на ежегодную динамику содержания в листьях березы повислой группы фенолгликозидов и влияние на них климатических факторов.

#### Материалы и методы исследования

Район очагов массового размножения непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) находится в березовых лесах Каменск-Уральского р-на Свердловской обл. Пробные площади располагались в березняках вблизи пос. «Покровское» (район очагов массового размножения непарного шелкопряда), контрольные – вблизи пос. Храмцовское, где фактор дефолиации полностью отсутствовал. Как показали исследования, в припоселковых березовых лесах средний уровень антропогенной трансформации высок (4 стадия) [1]. Основной источник антропогенного воздействия: рекреационная и пастбищная дигрессия. Уровень тех-

ногенного загрязнения, в основном, не превышает ПДК [14]. Сбор листьев березы повислой для хроматографического анализа проводился в затухших очагах массового размножения непарного шелкопряда на пробных площадях с 70%-ной дефолиацией крон в 2009 г. и за границей очагов, где отсутствовала дефолиация в сходных лесорастительных условиях. Взятие каждой пробы осуществлялось от нескольких деревьев. Первое взятие проб проводилось в 2012 г., затем ежегодно до 2017 г. При этом ежегодно пробы отбирались с одних и тех же деревьев, в одно и то же время (10 июня). Сразу после отбора проб собранные листья березы высушивали при комнатной температуре, затем размалывали. Навеску размолотых листьев (2 г) помещали в емкость с 50 мл этанола. Экстракцию фенольных соединений из листьев березы проводили в водяной бане с обратным холодильником 96% этиловым спиртом в течение 30 мин при кипении раствора. После этого суспензию центрифугировали при 10000 г в течение 10 мин и пропускали через шприцевой фильтр [0,45 мкм]. Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20 со спектрофотометрическим УФ-детектором. Объем пробы – 20 мкл. Детектирование элюента осуществляли одновременно на двух полосах поглощения: [λ360/λ254] нм на хроматографической колонке PerfectSil Target ODS-3 5 мкм с обращенной фазой, размерами 250×4,6 мм. Градиентное элюирование проводилось, в диапазоне 10–50% со скоростью 1 мл в мин при температуре 40°C. Элюент А – ацетонитрил – 0,05 М фосфатный буферный раствор (pH = 3,0); элюент В – ацетонитрил – вода (9:1). Продолжительность хроматографического анализа составляла 50 мин. Из них от 0 до 30 мин проводилось градиентное элюирование в диапазоне 10–50%, затем в течение 20 мин при концентрации 50%. Для идентификации фенольных соединений использовались вещества-свидетели фирмы: Fluka, Sigma, Aldrich. Для идентификации хроматографических фракций использовался общепринятый метод на основе идентификации соединений по tR (время удерживания) и спектральное отношение параметров абсорбции [λ360/λ254] нм. Хроматографию каждой пробы проводили в трех повторностях. Затем рассчитывали среднее значение. Климатические условия изучали методом анализа гидротермических коэффициентов (ГТК) Селянинова. Статистическую достоверность полученных результатов определяли с помощью Т-критерия Стьюдента.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Как показали результаты хроматографического анализа, через 3 года после дефолиации древостоев березы повислой содержание фенолгликозида арбутина было наиболее высоким за весь период наблюдений (табл. 1).

Оно было выше, чем в контрольных древостоях, на 34,4%. По нашему мнению, это обусловлено последним годом функционирования механизма замедленной энтоморезистентности. По данным ряда авторов этот период продолжается в течение 3 лет после дефолиации крон деревьев [5]. При этом следует учесть, что

в течение всего сезона вегетации наблюдалась полная засуха в течение мая – августа (табл. 2). Это единственный год за весь период наблюдений, когда содержание арбутина в ранее дефолированных насаждениях было выше, чем в контрольных. В остальные годы содержание арбутина в контрольных древостоях всегда заметно превышало их содержание в дефолированных насаждениях. В 2013 г. произошло резкое снижение содержания арбутина и в контрольных, и в ранее дефолированных березняках. Это происходило на фоне засухи (табл. 2). Различия в содержании арбутина в контрольных и дефолированных насаждениях были статистически недостоверны. В следующем, 2014 г., содержание арбутина вновь значительно возрастает на фоне локальной майской засухи (ГТК = 0,41) и остальных летних месяцев с высокими ГТК (табл. 2). При этом содержание арбутина в листьях ранее дефолированных древостоев было на 25,9% ниже,

чем в контрольных (табл. 1). В 2015 г., на фоне ГТК мая выше нормы и июня – в норме (табл. 2), содержание всех фенолгликозидов возросло. Вновь содержание арбутина оказалось в контрольных насаждениях выше на 26,47%, по сравнению с дефолированными ранее древостоями (табл. 1). В 2016 г. различия оказались выражены еще значительнее. Содержание арбутина в дефолированных насаждениях было на 144,56% ниже, чем в контрольных. Климатические условия весенне-летнего сезона в этом году характеризовались полной засухой. В этой ситуации наиболее логичным объяснением столь значительных различий может быть выявленная нами ранее разная реакция контрольных и дефолируемых древостоев на засуху [6]. В 2017 г. на фоне ГТК выше нормы содержание арбутина в листьях березы в обоих вариантах вновь заметно возрастает. При этом содержание его в контроле почти в два раза выше, чем в ранее дефолируемых насаждениях.

**Таблица 1**

Влияние фактора дефолиации и климатических условий на динамику содержания фенолгликозидов в листьях березы повислой

Наименование соединения	Контроль п. Храмцовское (Абсорбция-mV) M ± SD	Дефолиация 70% в 2009 г. (п. Покровское) (Абсорбция-mV) M ± SD	T <sub>st</sub>	P
2012 г.				
Арбутин	285,31 ± 17,32	383,52 ± 43,48	4,32	0,0049
Салидрозид	61,87 ± 7,73	41,11 ± 4,88	4,98	0,0024
Салицин	41,7 ± 12,97	80,53 ± 11,82	4,42	0,0044
2013 г.				
Арбутин	112,95 ± 11,547	128,76 ± 11,42	1,93	0,100
Салидрозид	35,0 ± 3,464	28,28 ± 3,36	2,74	0,030
Салицин	88,33 ± 9,237	59,58 ± 5,228	5,417	0,0016
2014 г.				
Арбутин	283,67 ± 23,209	210,3 ± 9,128	5,88	0,0010
Салидрозид	38,54 ± 3,81	31,15 ± 3,464	2,87	0,028
Салицин	42,47 ± 3,464	35,17 ± 2,309	3,506	0,012
2015 г.				
Арбутин	297,42 ± 18,41	235,17 ± 14,22	4,29	0,0052
Салидрозид	46,17 ± 5,12	38,14 ± 4,16	2,81	0,029
Салицин	65,18 ± 7,81	54,61 ± 5,42	4,58	0,018
2016 г.				
Арбутин	247,42 ± 34,64	101,17 ± 23,094	7,015	0,0004
Салидрозид	34,48 ± 4,618	37,62 ± 5,773	0,84	0,428
Салицин	57,26 ± 7,257	51,33 ± 5,228	1,29	0,24
2017 г.				
Арбутин	355,8 ± 3,526	184,6 ± 10,987	29,67	0,0000
Салидрозид	72,12 ± 0,409	65,8 ± 0,208	27,04	0,0000
Салицин	113,7 ± 11,547	101,36 ± 6,35	1,94	0,099

**Таблица 2**  
Гидротермические коэффициенты  
весенне-летнего периода  
в Каменск-Уральском районе  
Свердловской обл. в 2010–2017 гг.  
(□) – засуха

Годы	Гидротермические коэффициенты Селянинова			
	Май	Июнь	Июль	Август
2010	0,93	0,6	0,52	0,73
2011	0,91	1,69	1,68	0,3
2012	0,65	0,75	0,39	0,79
2013	1,14	0,57	0,79	0,54
2014	0,41	1,5	1,88	0,96
2015	1,26	1,03	1,66	2,25
2016	0,33	0,71	0,66	0,49
2017	0,98	1,84	1,58	1,14

Полученные нами результаты позволяют предполагать, что арбутин может быть и компонентом конститутивной резистентности, и компонентом индуцированной резистентности. Соответственно, в межвспышечный период в высокорезистентных березовых древостоях его содержание заметно выше, чем в дефолиированных, с низкой энтоморезистентностью.

Анализ типа, уровня и характера реакции другого фенолгликозида: салидрозида демонстрирует определенные особенности. В 2012 г. это достоверное отсутствие позитивной реакции на фактор дефолиации и, соответственно, возрастание содержания этого соединения в контрольных насаждениях на 50,49%, по сравнению с ранее дефолиированными березняками (табл. 1). На этом основании можно предполагать, что через 3 года после 70%-ной дефолиации реакция замедленной энтоморезистентности у салидрозида отсутствовала на фоне полной весенне-летней засухи в 2012 г. В 2013 г. содержание этого соединения вновь было выше в контрольных насаждениях (без дефолиации) на 23,76% (табл. 1). Это происходило на фоне ГТК мая выше нормы и засушливых условий в июне (табл. 2). В следующем, 2014 г. это различие также сохранялось. Содержание салидрозида в контрольных березняках было выше на 23,72%, по сравнению с контролем. В 2015 г. содержание салидрозида оказалось выше в контроле на 21,05%. В 2016 г. различия в содержании салидрозида были статистически недостоверны. Это происходило на фоне полной весенне-летней засухи (табл. 2). В 2017 г. на фоне близкого к норме ГТК мая и значительно превышающего норму ГТК июня абсолютные параметры содержания салидрозида значительно воз-

росли, по сравнению с предыдущим годом, у контрольных березняков более, чем в 2 раза, у ранее дефолиированных – почти в два раза. При этом, различия в содержании салидрозида составляли 9,6%, т.е. – незначительную величину. Таким образом в целом большую часть периода наблюдений преобладание содержания салидрозида в контрольных насаждениях сохраняется, но уровень дифференциации по абсолютной величине был несколько ниже, чем у арбутина.

У салицина в 2012 г. уровень различий в содержании был очень значительным (почти двукратным) в сторону доминирования содержания в листьях ранее дефолиированных насаждений (табл. 1) на фоне умеренной засухи в мае и июне (табл. 2). Таким образом, через 3 года после дефолиации у салицина в листьях березы повислой регистрируется очень активная реакция вследствие замедленной энтоморезистентности. В 2013 г. на фоне ГТК мая выше нормы и засушливых условий в июне (табл. 2), реакция изменяется в противоположном направлении. Содержание салицина в контрольных древостоях становится выше (на 48,23%), по сравнению с ранее дефолиированными древостоями (табл. 1). Такой же тип и характер реакции сохраняется и в 2014 г. на фоне интенсивной майской засухи и резкого превышения нормы ГТК в июне (табл. 2). В 2015 г. на фоне ГТК выше нормы содержание салицина было на 19,36% больше, по сравнению с контролем. В 2016 г. на фоне полной весенне-летней засухи, с ГТК мая: 0,33, июня: 0,71 (табл. 2), различия в содержании салицина сохраняются (табл. 1). Наблюдается преобладание этого соединения в контрольных насаждениях, но различия были не очень значительны (на 11,55%).

### Заключение

Как показали результаты исследований, у двух из трех проанализированных фенолгликозидов продолжительность реакции замедленной индуцированной энтоморезистентности составляет 3 года после воздействия фактора дефолиации. Это арбутин и салицин. У салидрозида на 3 год этой реакции не выявлено. Также удалось установить, что климатические условия весенне-летнего периода оказывают значительное влияние на абсолютное содержание изученных фенолгликозидов. Оно заметно возрастает в условиях высоких уровней ГТК, значительно превышающих норму. Выявлено также заметное ингибирование активности фенолгликозидов при воздействии фактора абиотического стресса (весенне-летней засухи).



Список литературы

1. Бахвалов С.А., Колтунов Е.В., Мартемьянов В.В. Факторы и экологические механизмы популяционной динамики лесных насекомых-филлофагов. Новосибирск: Изд-во СО РАН, 2010. 358 с.
2. Колтунов Е.В., Яковлева М.И. Биохимические особенности конститутивной резистентности березы повислой (*Betula pendula* Roth.) к повреждению насекомыми-филлофагами в условиях антропогенного воздействия. Современные проблемы науки и образования. 2014. № 5.; URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14971> (дата обращения: 14.09.2018).
3. Sniezko R.A., Koch J. Breeding trees resistant to insects and diseases: putting theory into application. Biol. Invasions. 2017. vol. 19. P. 3377–3400. DOI 10.1007/s10530-017-1482-5.
4. Telford A., Cavers S., Ennos R.A., Cottrell J.E. Can we protect forests by harnessing variation in resistance to pests and pathogens? Forestry. 2015. vol. 88. P. 3–12. DOI: 10.1093/forestry/cpu012.
5. Austel N., Meiners T. Elm leaves «warned» by insect egg deposition reduce survival of hatching larvae by a shift in their quantitative leaf metabolite pattern. Plant Cell and Environment. 2015. vol. 39 (2). P. 366–376.
6. Dale A.G., Frank S.D. Warming and drought combine to increase pest insect fitness on urban trees. PLoS One. 2017. vol. 12 (3): e0173844. DOI: 10.1371/journal.pone.0173844.
7. Valkama E., Koricheva J., Salminen J.P., Helander M., Saloniemi I., Saikkonen K., Pihlaja K. Leaf surface traits: overlooked determinants of birch resistance to herbivores and foliar microfungi? Trees. 2005. vol. 19. P. 191–197.
8. Howe G.A., Jander G. Plant immunity to insect herbivores. Annu. Rev. Plant Biol. 2008. vol. 59. P. 41–66.
9. Кавеленова Л.М., Малыхина Е.В., Розно С.А., Смирнов Ю.В. К методологии экофизиологических исследований листьев древесных растений // Поволжский экол. журнал. 2008. № 3. С. 200–210.
10. War A.R., Paulraj M.G., Ahmad T., Buhroo A.A., Husain B., Ignacimuthu S., Sharma H.C. Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. Plant signaling and behavior. 2012. vol. 7 (10). P. 1306–1320.
11. Koricheva J., Basson S., Haukioja E. Insect performance on experimentally stressed woody plants: A meta-analysis. Annu. Rev. Entomol. 1998. vol. 43. P. 195–216.
12. Hemming J.D., Lindroth R.L. Effects of phenolic glycosides and protein on gypsy moth (*Lepidoptera: Lymantriidae*) and forest tent caterpillar (*Lepidoptera: Lasiocampidae*) performance and detoxication activities. Environ. Entomol. 2000. vol. 29. P. 1108–1115.
13. Hale B.K., Herms D.A., Hansen R.C., Clausen T.P., Arnold D. Effect of drought stress and nutrient availability on dry matter allocation, phenolic glycosides and rapid induced resistance of poplar to two *Lymantriid* defoliators. Journal of Chemical Ecology. 2005. vol. 31. P. 2601–2620.
14. Хамидулина М.И. Особенности реакции березняков Зауралья на вспышки массового размножения непарного шелкопряда (*Lymantria dispar* L.) в условиях техногенного загрязнения: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Екатеринбург, 2013. 26 с.